In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful













Laboratoire de biologie/Module de génétique.

Dr Boudiaf Benaferi R.

GENETIQUE BACTERIENNE

1-MORPHOLOGIE BACTERIENNE ET VIRALE :

Morphologie bactérienne :

La bactérie est un organisme unicellulaire constitué d'éléments obligatoires et d'éléments facultatifs :

-Les éléments obligatoires sont : l'appareil nucléaire, le cytoplasme, la membrane cytoplasmique et la paroi.

-Les éléments facultatifs sont : la capsule, les cils ou flagelles, **les pili** et les plasmides.

→les pili (singulier pilus) : ce sont des filaments rigides retrouvés à la surface de la bactérie. Il en existe deux variétés :

Les pili communs : ce sont de courts filaments dont la fonction est l'adsorption de la bactérie à la surface de certaines cellules.

Les pili sexuels : ce sont de longs filaments moins nombreux que les précédents. Ils interviennent dans le phénomène de la conjugaison. Ils sont codés par le facteur F.

→les plasmides : ce sont des fragments d'ADN extra chromosomiques circulaires, capables de s'autorépliquer indépendamment du chromosome bactérien et peuvent se transférer d'une bactérie à l'autre surtout par conjugaison.

Morphologie virale :

Le virus est un parasite obligatoire, il a toujours besoin d'un hôte.

Les virus qui infectent les bactéries sont dits bactériophages.

Exemple de bactériophage : virus de type A

C'est les plus complexes. Ils possèdent une tête hexagonale, une queue rigide avec une gaine contractile et des fibres caudales.

2-MILIEUX DE CULTURE :

Le milieu de culture est un milieu synthétique qui répond aux exigences nutritionnelles des bactéries. Ce milieu peut être liquide (tube) ou semi solide (boite de pétri avec gélose).

Il est constitué :

- D'un milieu minéral : eau + sels minéraux NaCl, KCl, Mg……
- D'une source d'énergie (de carbone) : glucose++, lactose, fructose…….
- De facteurs de croissance (que la bactérie ne peut pas synthétiser) ce sont les acides aminés et les vitamines.

Principaux types nutritionnels des bactéries :

Elles ont toutes besoin d'un milieu minéral.
►En fonction de la source d'énergie :
→les bactéries autotrophes : elles sont capables d'utiliser le CO2 de l'air comme source d'énergie.exp : Les **cyanobactéries**.
→les bactéries hétérotrophes : elles ont besoin d'une source d'énergie organique.
►En fonction des facteurs de croissance :
→les bactéries prototrophes : elles sont capables de synthétiser les acides aminés et les vitamines dont elles ont besoin. Elles ont besoin donc que d'un milieu minéral + une source d'énergie pour se multiplier.
→les bactéries auxotrophes : elles ne sont pas capables de synthétiser tous les facteurs de croissance dont elles ont besoin.

Les différents milieux de culture :

- Le milieu minimum : milieu minéral + source d'énergie.
- Milieu complet : milieu minimum + facteurs de croissance.
- Milieu sélectif : milieu qui permet la croissance et multiplication d'une souche bactérienne et pas d'une autre.
- Milieu commun : milieu qui permet la croissance et multiplication de plusieurs souches bactériennes en même temps (deux en général).

3-LES RECOMBINAISONS GENETIQUES :

Les bactéries sont de procaryotes donc leur génétique n'obéit pas au schéma mendélien des eucaryotes.
Elles sont haploïdes et ne subissent pas de division équivalente à la méiose. Elles utilisent donc d'autres mécanismes pour la recombinaison génétique.
Les plus importants sont :

LA TRANSFORMATION LA CONJUGAISON LA TRANSDUCTION

3-1.LA TRANSFORMATION :

C'est la pénétration et l'intégration d'un fragment d'ADN nu (provenant généralement d'une souche bactérienne lysée de la même espèce) à l'intérieur d'une bactérie réceptrice dite <u>compétente</u>.

Le résultat est une modification de caractères de la bactérie réceptrice.

Les expériences de GRIFFITH(1928) :

Elles ont été menées sur le pneumocoque (streptococcus pneumonia).

Cette bactérie se présente sous deux formes morphologiques :

- La forme S (smooth) : c'est une forme encapsulée et virulente. Injectée à la souris, elle déclenche une septicémie mortelle en 24-48h.
- La forme R (rough) : c'est une forme mutée, non encapsulée non pathogène.

Griffith à inoculé par injection intra péritonéale à plusieurs souris les différents types d'injections suivantes et a constaté :

1- Que les pneumocoques S vivants provoquent une septicémie mortelle.
2- Que les pneumocoques R vivants ne provoquent pas de maladie.
3- Que les pneumocoques S tuées ne provoquent pas de maladie.
4- Qu'un mélange de pneumocoques S tués et de pneumocoques R vivants provoquent une septicémie mortelle et l'examen sanguin des souris révèle l'existence de pneumocoques S vivants.

Griffith conclue que le milieu de culture des pneumocoques S tués contient un principe transformant qui a modifié les pneumocoques R et les a transformés en pneumocoques S.
Il faut attendre 1944 pour qu'Avery et col. démontrent que la substance responsable de la transformation est de l'ADN.

Principe de la transformation :

La transformation inclus deux événements successifs :

-la pénétration de l'ADN nu (exogénote) dans la bactérie réceptrice compétente.

-recombinaison génétique entre l'exogénote et l'endogénote partiellement homologue. Ce qui va donner à la bactérie réceptrice de nouvelles caractéristiques qu'elle va transmettre à sa descendance.

3-2.LA CONJUGAISON :

C'est le transfert de matériel génétique d'une bactérie donatrice « mâle » à une bactérie réceptrice « femelle » par contact direct (pont de conjugaison) entre les deux bactéries.
Le matériel transféré peut être chromosomique ou extra chromosomique (plasmide, épisome).

Expériences de LEDEBERG et TATUM :

LEDERBERG et TATUM mélangèrent dans un milieu liquide,
2 mutants polyauxotrophes d'*E. coli* K12 : 10^8 T-L-M+B+ et 10^8 T+L+M-B-
(exigence en thréonine, T- ; leucine, L- ; méthionine, M- et biotine B-).
Etalement de 10^8 bactéries sur milieu synthétique sans T, L, M et B.
Après incubation, croissance d'une centaine de colonies.
Ces clones ainsi que leur descendance sont T+ L+ M+ B+.
Il ne pouvait s'agir de mutants doublement réverses (probabilité de l'ordre de 10^{-14}) mais de recombinants.

Ils mélangèrent ensuite les deux premières souches dans un tube avec milieu minimum mais séparées par une membrane semi perméable qui laisse passer l'ADN mais pas les bactéries entières.
Aucune colonie n'a poussé.

Conclusion :
Une souche autotrophe a pu être obtenue après mélange de deux souches auxotrophes dans un milieu commun et contact physique.

Facteur de fertilité F et différentiation sexuelle :

Le facteur F est un épisome qui confère à la bactérie le caractère « mâle ».

- Si le facteur F est autonome au niveau de la bactérie, elle est dite F+.
- Si le facteur F est intégré au chromosome bactérien, la bactérie est dite Hfr.
- La bactérie ne possédant pas le facteur F est dite F-.Elle est assimilée au caractère « femelle ».

3-3.LA TRANSDUCTION :

C'est le transfert d'un fragment d'ADN d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un bactériophage à ADN bicaténaire.

Cycle viral :

La bactérie est un intermédiaire obligatoire pour que le bactériophage puisse se reproduire.

Une fois dans la bactérie le phage peut se comporter de deux manières :

1- Soit il est virulent ; il se reproduit et la bactérie est lysée, c'est le cycle lytique.
2- Soit il est tempéré ; son ADN s'intègre au chromosome bactérien. La bactérie continue son cycle et se réplique normalement tout en répliquant l'ADN viral et le transmettant aux cellules filles. C'est le cycle lysogène.

La transduction peut avoir lieu au moment ou le cycle lysogène se transforme en cycle lytique (quand le virus sent que la bactérie est en danger exp : rayons UV).
Le virus, en se détachant du chromosome bactérien, peut entrainer avec lieu un fragment d'ADN qu'il intègrera ensuite dans l'ADN d'une nouvelle bactérie hôte.

Les différents types de transduction :

- Transduction généralisée (non spécifique): n'importe quel gène d'une bactérie A peut être transféré à une bactérie B.

- Transduction spécialisée (localisée): transfert de gènes spécifiques.

Exp: le phage lambda (phage tempéré) s'intègre chez E.Coli entre le gène lactose et gène biotine.
Remarque: la transduction ne concerne qu'un seul gène (interet en thérapie génique et en génie génétique).